Aus der Wissenschaftlichen Abteilung des Instituts für experimentelle Krebsforschung in Heidelberg (Direktor: Professor Dr. H. Sachs)

Beitrag zur Frage der Antikörperwirkung in den durch Salzsäurefällung erhaltenen Serumfraktionen

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Medizinischen Fakultät der Universität Basel

vorgelegt von

Alfred Lewin
aus Gollub (Westpreußen)

Jena
Gustav Fischer
1936

Aus der Wissenschaftlichen Abteilung des Instituts für experimentelle Krebsforschung in Heidelberg (Direktor: Professor Dr. H. Sachs)

Beitrag zur Frage der Antikörperwirkung in den durch Salzsäurefällung erhaltenen Serumfraktionen

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Medizinischen Fakultät der Universität Basel

vorgelegt von

Alfred Lewin
aus Gollub (Westpreußen)

Jena
Gustav Fischer
1936

Von der Medizinischen Fakultät der Universität Basel
genehmigt auf Antrag von Professor Dr. Robert Doerr.

Tag der Promotion: 11. März 1936.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Die vorliegende Dissertation erschien gleichzeitig in der
„Zeitschrift für Immunitätsforschung", Bd. 87, 1936, Heft 3/4
herausgegeben von P. Uhlenhuth in Freiburg i. Br.
Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Meinen lieben Eltern

In einer früheren Arbeit hat Selter[1]) gezeigt, daß bei der Fällung von Lipoidantisera, die gegen Lezithin oder gegen ubiquitär verbreitete Lipoide gerichtet sind, die Lipoidantikörper nach Ausfällung mit verdünnter Salzsäure bei 0° sich im Niederschlag befinden, während die gleichzeitig vorhandenen Eiweißantikörper (gegen Schweineserum) in der Albuminfraktion nachweisbar sind. Hierdurch war es einerseits möglich, in Kombinationsantisera Lipoidantikörper und Eiweißantikörper räumlich zu trennen, andererseits bestand ein Unterschied im Verhalten der gegen ubiquitäre Lipoide oder Lezithin gerichteten Antikörper von demjenigen der heterogenetischen Antikörper insofern, als die letzteren bei gleichem Vorgehen in der Albuminfraktion blieben. Dieser Unterschied wurde dadurch zu erklären versucht, daß bei der Salzsäurefällung die allgemeinen Lipoidantikörper mit den durch Salzsäureeinwirkung disponibel gewordenen Lipoiden des Niederschlags in Reaktion treten und so mitgerissen werden. Ein gewisser Gegensatz besteht jedoch augenscheinlich zwischen dem Verhalten der in Immunseris vorhandenen allgemeinen Lipoidantikörper und demjenigen der bei der Wassermannschen Reaktion wirksamen Antikörper des menschlichen Blutserums.

Durch die Untersuchungen von Sahlmann[2]) sowie von Sachs[3]) ist bekannt, daß man unter Umständen durch Salzsäurefällung Wassermann-positiver menschlicher Blutsera Albuminfraktionen erhalten kann, die bei der Wassermannschen Reaktion positiv reagieren und dabei in geeigneten Fällen die durch

1) G. E. Selter, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 54, 1927, S. 113.
2) H. Sahlmann, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 33, 1921, S. 130.
3) H. Sachs, Berl. klin. Wochenschr., 1921, No. 36.

das native Serum verursachte Eigenhemmung vermissen lassen. Von Sachs und Georgi[1]) ist dieses Verfahren auch zur Serodiagnostik der Kaninchensyphilis empfohlen worden (vgl. auch Georgi und Steinfeld[2]), wobei es sich ermöglichen ließ, durch das Ausfällen der labilsten Globulinquoten unspezifische Reaktionen bei gesunden Tieren zu vermeiden. Auguste[3]) hat neuerdings sogar angegeben, daß die Abgüsse der mit verdünnter Salzsäure behandelten menschlichen Sera bei der Wassermannschen Reaktion empfindlicher reagieren als die nativen Sera. Die Unterschiede, die sich derart ergeben, dürften allerdings, wie schon die Untersuchungen von Selter gezeigt haben, zum Teil nur scheinbare sein, da die Reaktionsfähigkeit der Abgüsse von Lipoidantiseris nach Fällen mit verdünnter Salzsäure sich wesentlich von den Temperaturbedingungen abhängig erwies. Während nach Salzsäurefällung bei höherer Temperatur die Albuminfraktion sich in der Regel stärker wirksam erwies als der Niederschlag, kehrt sich das Verhältnis bei Temperaturerniedrigung um, um nach Salzsäurefällung bei 0° ein Optimum zugunsten des im Niederschlag enthaltenen Globulinanteils zu erreichen. Daß auch bei der Salzsäuretrennung Wassermann-positiver Sera individuelle Verschiedenheiten im Verhalten der Fraktionen vorkommen können, ergibt sich bereits aus den Arbeiten von Gloor und Klinger[4]) und Sahlmann (l. c.).

Die folgenden Versuche galten einer weiteren Analyse der bei Salzsäurefällung der Sera vorliegenden Bedingungen. Zugleich sollte durch sie die Frage erörtert werden, ob in der Tat in dem Salzsäureniederschlag der Immunsera eine Disponibilität vorhandener Lipoidantigenfunktionen im Sinne der von Selter aufgestellten Annahme nachgewiesen werden kann.

Zu den Prüfungen wurden eine Reihe von Kombinationsantisera, gewonnen durch Immunisierung von Kaninchen mit Rinderherzextrakt oder Pferdenierenextrakt unter Zusatz von Schweineserum, sowie Wassermann-positive Sera herangezogen. Komplementbindung und Flockung wurden nach dem üblichen Vorgange ausgeführt. Dabei wurden die Ergebnisse der Komplementbindung durch Abschätzung der eingetretenen Hämolyse, wie folgt, notiert:

k = komplette Hämolyse	w = wenig Hämolyse
fk = fast komplette Hämolyse	Sp = Spur Hämolyse
st = starke Hämolyse	Spch = Spürchen Hämolyse
m = mäßige Hämolyse	0 = keine Hämolyse.

Die Flockungsgrade wurden mit +-Zeichen bewertet.

---

1) H. Sachs und F. Georgi, Klin. Wochenschr., 1923, No. 19.

2) F. Georgi und J. Steinfeld, Klin. Wochenschr., 1923, No. 51.

3) Ch. Auguste, Compt. rend. Soc. Biol., T. 117, 1934, p. 885; Bull Acad. Méd., T. 112, 1934, p. 510.

4) W. Gloor und R. Klinger, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 29, 1920, S. 435.

Als ich nun eine Reihe von durch Kombinationsimmunisierung gewonnenen Lipoidantiseris nach Trennung der Fraktionen durch Salzsäurefällung prüfte, ergaben sich in den meisten Fällen nicht die durchsichtigen Ergebnisse, wie sie Selter erhalten hatte. Schon Selter hat allerdings darauf hingewiesen, daß nicht alle Antisera sich in gleicher Weise eignen. Immerhin erwies sich aber nach seinen Versuchen in der Regel nach Salzsäurefällung bei höherer Temperatur die Albuminfraktion, bei niederer Temperatur die Globulinfraktion als wirksamer. Im Gegensatz dazu bin ich auch Antiseris begegnet, in denen sich trotz der bei niederer Temperatur ausgeführten Salzsäurefällung die albuminhaltigen Abgüsse als wirksamer erwiesen, wie z. B. das folgende Versuchsbeispiel zeigt.

Je 0,25 ccm des Rinderherzextrakt-Antiserums 9051 wurden mit 2 ccm

a) 1/300 n/Salzsäure (in Aqua dest.)
b) 1/350 n/Salzsäure „ „ „
c) 1/400 n/Salzsäure „ „ „

eine Stunde bei 0° gehalten. Nach dem Zentrifugieren wurden

I. den Abgüssen 0,2 ccm 10proz. Kochsalzlösung zugefügt[1]),
II. die Sedimente in 2,5 ccm 0,9proz. Kochsalzlösung aufgenommen.

Die Komplementbindungsfähigkeit der Abgüsse (Albumin) und der Sedimente (Globulin) zeigt im Vergleich mit dem Verhalten des nativen Antiserums (III) Tabelle I.

Die Tabelle zeigt, daß trotz Salzsäurefällung in der Kälte die Albuminfraktion stärker wirksam ist als die Globulinfraktion. Augenscheinlich können sich also die einzelnen Antisera in noch stärkerem Maße, als das von Selter ermittelt wurde, bei der Salzsäurefällung unterscheiden. Derartigen Differenzen bin ich wiederholt begegnet, ohne daß es mir möglich war, über die Ursache dieser Unterschiede Aufschluß zu erhalten. Daß jedenfalls nicht qualitative Unterschiede der Antiserumwirkung für das divergente Verhalten maßgebend sind, zeigte die Prüfung von Antiseris, die durchaus dem von Selter beschriebenen Verhalten folgten und sich hierin von anderen etwa gleich stark wirkenden Antiseris deutlich unterschieden. Ich lasse

1) In vergleichenden Untersuchungen hatte sich gezeigt, daß das gleichzeitige Neutralisieren durch Zusatz von entsprechend verdünnter n/Natronlauge ohne Bedeutung war, entsprechend älteren Erhebungen von Gloor und Klinger (l. c.) sowie von Sachs (l. c.).

Tabelle I.

Mengen des 10fach verdünnten Antiserums bzw. seiner Fraktionen	Hämolyse von Hammelblut durch Ambozeptor und Komplement nach dessen Vorbehandlung mit chol. Rinderherzextrakt und Rinderherzextrakt-Antiserum						
	I Albumin, erhalten durch			II Globulin, erhalten durch			III
ccm	1/300 n. Salzs.	1/350 n. Salzs.	1/400 n. Salzs.	1/300 n. Salzs.	1/350 n. Salzs.	1/400 n. Salzs.	nativ
0,25	0	0	0	0	0	0	0
0,15	0	0	0	0	0	0	0
0,1	0	0	0	0	0	0	0
0,05	0	0	0	fk	st	st	0
0,03	0	Spch	0	k	k	k	0
0,02	fk	st	m	k	k	k	0
0,01	fk	k	k	k	k	k	st
0,006	fk	k	k	k	k	k	fk
0,004	fk	k	k	k	k	k	k

ein Versuchsbeispiel folgen, in dem es sich um die Prüfung der beiden Rinderherzextrakt-Antisera 9109 und 9122 handelte.

Die Fällung der Antisera wurde in diesem Versuch bei Zimmertemperatur vorgenommen, und zwar

I. bei Antiserum 9109 mit
   a) 1/400 n/Salzsäure,
   b) 1/500 n/Salzsäure;

II. bei Antiserum 9122 mit
   a) 1/200 n/Salzsäure,
   b) 1/250 n/Salzsäure.

Die Salzsäurekonzentrationen entsprachen etwa der optimalen Fällungsintensität.

Das Ergebnis der Prüfung ist aus Tabelle II ersichtlich.

Es ist bemerkenswert, daß die beiden Rinderherzextrakt-Antisera sich trotz annähernd gleich starker Wirkung verschieden verhalten. Während bei dem Antiserum 9122 der Antikörpergehalt zwischen Albumin und Globulin gleichmäßig verteilt ist, ja sogar in der Albuminfraktion etwas überwiegt, ist bei dem Antiserum 9109 in Uebereinstimmung mit den Angaben von Selter nach der Salzsäurefällung fast nur der Globulinanteil antikörperhaltig. Vielleicht ist bemerkenswert, daß das Antiserum

Tabelle II.

Mengen der 10fach verdünnten Antisera bzw. ihrer Fraktionen	Hämolyse von Hammelblut durch Ambozeptor und Komplement nach dessen Vorbehandlung mit chol. Rinderherzextrakt und Rinderherzextrakt-Antiserum									
	I. 9109					II. 9122				
	Albumin, erhalten durch		Globulin, erhalten durch		nativ	Albumin, erhalten durch		Globulin, erhalten durch		nativ
ccm	a 1/400 HCl	b 1/500 HCl	a 1/400 HCl	b 1/500 HCl		a 1/200 HCl	b 1/250 HCl	a 1/200 HCl	b 1/250 HCl	
0,25	Sp	w	0	0	0	0	0	0	0	0
0,15	m	m	0	0	0	0	0	0	0	0
0.1	fk	k	0	0	0	0	0	0	0	0
0,05	k	k	0	0	0	Spch	Spch	w	m	0
0,03	k	k	Spch	Sp	0	fk	m	k	k	0
0,02	k	k	m	w	0	k	st	k	k	Sp
0,01	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k

9109 maximale Ausflockung gerade bei der verhältnismäßig stark verdünnten Salzsäure (1/500 n) aufwies, während die überwiegende Mehrheit der anderen geprüften Antisera ihr Ausflockungsoptimum bei der Verdünnung mit 1/200 bis 1/300 n/Salzsäure, in der Regel bei 1/250 n hatte, ein Unterschied, dessen Ursache freilich dahingestellt bleiben muß.

Andererseits begegnete ich bei der Prüfung heterogenetischer Antisera (gewonnen durch Kombinationsimmunisierung mit Pferdenierenextrakt und Schweineserum) dem auch von Selter beschriebenen Verhalten; die heterogenetischen Antikörper waren bei der Salzsäurefällung annähernd quantitativ in der Albuminfraktion enthalten. Da mir nun einige heterogenetische Antisera zur Verfügung standen, die auch auf ubiquitär verbreitete Lipoide außerordentlich stark übergriffen, erschien es nicht ohne Interesse, durch Salzsäurefällung zu einer Trennung der heterogenetischen und der allgemeinen Lipoidantikörper in einem und demselben Antiserum zu gelangen. Daß das in der Tat möglich ist, soll das folgende Versuchsbeispiel zeigen. Es handelt sich hierbei um ein durch Kombinationsimmunisierung mit Pferdenierenextrakt und Schweineserum gewonnenes Antiserum 8796, bei dem freilich zu berücksichtigen ist, daß es heterogenetisch wesentlich stärker wirkte als gegen ubiquitär verbreitete Lipoide.

0,3 ccm des Antiserums 8796 wurden mit 2,46 ccm 1/300 n/Salzsäure eine Stunde bei 0° digeriert, sodann wurde abzentrifugiert und der Abguß (Albumin) durch Zusatz von 0,24 ccm 10proz. Kochsalzlösung besalzen. Die Komplementbindung wurde alsdann unter Vergleich mit dem nativen Antiserum derart ausgeführt, daß absteigende Mengen (Volumen 0,25 ccm)

a) des Albumins,

b) des nativen Serums

unter Zusatz von je 0,25 ccm 10fach verdünnten Meerschweinchenserums mit je 0,25 ccm

I. 12fach verdünnten Pferdenierenextrakts,

II. 6fach verdünnten chol. Rinderherzextrakts eine Stunde im Brutschrank digeriert wurden.

Nach Zusatz des hämolytischen Systems ergab sich die aus Tabelle III ersichtliche Hämolyse.

Tabelle III.

Mengen des 50- bzw. 10fach verdünnten Antiserums bzw. seiner Albuminfraktion ccm	Hämolyse von Hammelblut durch Ambozeptor und Komplement nach dessen Vorbehandlung mit			
	I Pferdenierenextrakt und 50fach verd. Antiserum		II Rinderherzextrakt und 10fach verd. Antiserum	
	a Albumin	b nativ	a Albumin	b nativ
0,25	0	0	st	0
0,15	0	0	st	0
0,1	0	0	st	0
0,05	0	0	fk	0
0,03	0	0	fk	0
0,02	0	0	fk	st
0,01	k	Spch	k	k
0,006	k	k	k	k

Wenn auch das heterogenetische Antiserum, wie zu erwarten, wesentlich stärker auf den heterogenetischen Pferdenierenextrakt als auf den Rinderherzextrakt wirkte, ergibt sich doch, daß nach Salzsäurefällung die heterogenetische Antikörperquote nur sehr geringfügig abnimmt, während die ubiquitäre Antikörperquote fast vollständig geschwunden erscheint. Dementsprechend war in den weiteren, nicht näher angegebenen Parallelversuchen die ubiquitäre Antikörperquote im wesentlichen im Sediment (Globulin) nachweisbar, während das Globulin mit heterogenetischem Extrakt nur in dem Maße reagierte, wie es auf Grund des Vorhandenseins der ubiquitären Lipoidanti-

körperquote zu erwarten war. Man kann also unter geeigneten Bedingungen durch Säurefällung in einem heterogenetischen Antiserum, das auch auf ubiquitär verbreitete Lipoide übergreift, die heterogenetischen Antikörper von den übrigen trennen.

Immerhin erschien es erwünscht, dieses Ergebnis auch unter Verwendung eines Gemisches von heterogenetischem Antiserum und allgemeinem Lipoidantiserum zu bestätigen, da es derart möglich war, eine etwa gleich starke Wirkung gegenüber heterogenetischen und allgemeinen Organextrakten zu erzielen. Ein Versuchsbeispiel dieser Art sei im folgenden angeführt.

0,3 ccm eines gleichteiligen Gemisches des Pferdenierenextrakt-Antiserums 8790 und des Rinderherzextrakt-Antiserums 9261 wurden mit 2,46 ccm 1/250 n Salzsäure eine Stunde bei 0° digeriert. Darauf wurde zentrifugiert; das Sediment (Globulin) wurde in 3 ccm 0,9proz. Kochsalzlösung aufgenommen, der Abguß (Albumin) durch Zusatz von 0,24 ccm 10proz. Kochsalzlösung besalzen. Das Ergebnis der Komplementbindung zeigt Tabelle IV.

Tabelle IV.

Mengen des 10fach verdünnten Antiserumgemisches bzw. seiner Komponenten ccm	Hämolyse von Hammelblut durch Ambozeptor und Komplement nach dessen Vorbehandlung mit					
	I Pferdenierenextrakt und dem Antiserumgemisch			II chol. Rinderherzextrakt und dem Antiserumgemisch		
	a Albumin	b Globulin	c nativ	a Albumin	b Globulin	c nativ
0,25	0	0	0	0	0	0
0,15	0	0	0	0	0	0
0,1	0	0	0	0	0	0
0,05	0	0	0	m	0	0
0,03	0	0	0	m	0	0
0,02	0	m	0	st	w	0
0,01	0	k	0	k	k	0
0,006	st	k	0	k	k	m
0,004	fk	k	0	k	k	fk
0,002	k	k	fk	k	k	k
0,001	k	k	k	k	k	k

Ein Vergleich der Teile I und II der Tabelle zeigt, daß jedenfalls hinsichtlich des Verhaltens der Albumin- und Globulinfraktion gegenüber Pferdenierenextrakt und cholesteriniertem Rinderherzextrakt eine Inversion besteht. Es ist nicht zu verwundern, daß die Globulinfraktion (Ib der Tabelle) mit Pferdenierenextrakt reagiert; denn im Pferde-

nierenextrakt sind ja ebenso wie im Rinderherzextrakt die entsprechenden allgemein verbreiteten Lipoide enthalten. Wesentlich ist aber, daß gegenüber Pferdenierenextrakt die Albuminfraktion stärkere Komplementbindung aufweist als die Globulinfraktion, während gegenüber cholesteriniertem Rinderherzextrakt das Umgekehrte der Fall ist. Es gelingt also in der Tat bis zu einem gewissen Grade, die in einem Antikörpergemisch vorhandenen heterogenetischen und allgemeinen Lipoidantikörperkomponenten räumlich voneinander zu trennen.

Wie die Tabelle zeigt, ist auch dann, wenn, wie bei der heterogenetischen Antikörperfraktion, die Wirkung hauptsächlich im Albuminanteil bleibt, eine gewisse Abschwächung der Wirkung wahrnehmbar gewesen. Dieser Umstand erscheint insofern beachtenswert, als in den bereits erwähnten Versuchen von Auguste die Wassermannsche Reaktion nach geeigneter Fällung verstärkt war. Der Nachweis einer Verstärkung der Komplementbindung nach Vorbehandlung von Antiseris mit Salzsäure ist mir unter vielfachen Variationen, die zum Teil Temperatur und Zeit, zum Teil die Salzsäurekonzentration betrafen, nicht gelungen. In der Regel war unter optimalen Bedingungen der Abguß ebenso stark oder geringgradig schwächer wirksam als das native Serum. Eine Steigerung der Empfindlichkeit wurde jedoch nicht beobachtet. Auch bei Prüfung Wassermann-positiver Sera und quantitativer Austitrierung bin ich der von Auguste angegebenen Erscheinung nicht begegnet. Nur in Ausnahmefällen schien eine geringgradige Verstärkung nach Salzsäureeinwirkung einzutreten; eine beweiskräftig erscheinende Bestätigung ist mir aber nicht geglückt. So war in einem Versuch eine Verstärkung wahrzunehmen, die gerade mit einem stark Wassermann-positiven Serum beobachtet wurde, während ein gleichzeitig geprüftes schwach positives Serum eher eine Abschwächung der Reaktionsfähigkeit aufwies.

Je 0,4 ccm von zwei Wassermann-positiven Menschenseris (a und b) wurden mit je 3,28 ccm 1/300 n/Salzsäure eine Stunde bei Zimmertemperatur gehalten. Nach dem Zentrifugieren wurden die Abgüsse durch Zusatz von 0,32 ccm 10proz. Kochsalzlösung besalzen.

Absteigende Mengen (Volumen 0,25 ccm)

I. der 10fach verdünnten nativen Sera,

II. der Abgüsse

wurden unter Zusatz von je 0,25 ccm 10fach verdünnten Meerschweinchenserums mit je 0,25 ccm 6fach verdünnten cholesterinierten Rinderherzextrakts

eine Stunde im Brutschrank digeriert. Nach Zusatz von je 0,5 ccm eines gleichteiligen Gemisches von Hammelblutaufschwemmung und Ambozeptorverdünnung ergab sich die aus Tabelle V ersichtliche Hämolyse.

Tabelle V.

Mengen der 10fach verdünnten Sera bzw. der Albumine	Hämolyse von Hammelblut durch Ambozeptor und Komplement nach dessen Vorbehandlung mit chol. Rinderherzextrakt und			
	I nativem Serum		II Albumin	
ccm	a	b	a	b
0,25	0	0	0	st
0,15	0	st	0	fk
0,1	0	k	0	k
0,05	0	k	0	k
0,03	Sp	k	0	k
0,02	k	k	0	k
0,01	k	k	w	k
0,006	k	k	k	k

Wie die Tabelle zeigt, dürfte es sich bei dem Serum a) um eine Verstärkung nach Salzsäurevorbehandlung handeln, während das nur schwach Wassermann-positive Serum b) nach der Salzsäurevorbehandlung abgeschwächt erscheint. Demgegenüber war nach Salzsäurevorbehandlung auch bei einem von zwei schwach Wassermann-positiven Menschenseris eine gewisse Verstärkung nachweisbar. Zu einer bestimmten Schlußfolgerung in bezug auf die Verstärkbarkeit der Wassermann-Reaktion durch die von Auguste angegebene Salzsäurevorbehandlung reichen die von mir erhobenen Befunde freilich nicht aus. Im übrigen zeigte sich auch bei der Prüfung Wassermann-positiver Sera, daß mit der Temperaturerniedrigung bei der Salzsäurefällung die Wirksamkeit der Albuminfraktion um so stärker abnahm und dementsprechend die Reaktionsfähigkeit der Globulinsedimente eine Zunahme erfuhr. Ein grundsätzlicher Unterschied im Verhalten der Rinderherzextrakt-Antisera und der Wassermann-positiven Patientensera bei der Salzsäurefällung dürfte also kaum bestehen.

Flockungsversuche führten etwa zu dem gleichen Ergebnis wie die Komplementbindung. Bei der Salzsäurefällung verhielten sich die beiden Fraktionen unter Heranziehung beider Verfahren

des Nachweises im allgemeinen entsprechend. Bei der heterogenetischen Flockung entstanden insofern gewisse Schwierigkeiten, als nach Salzsäurebehandlung die einzelnen Fraktionen gegenüber nichtcholesteriniertem Pferdenierenextrakt häufig ziemlich stark abgeschwächt waren. Unter Verwendung von cholesteriniertem Pferdenierenextrakt wurden aber durchsichtige Versuchsresultate erzielt, mit dem Ergebnis, daß ebenso wie die komplementbindende Funktion auch die flockende Wirkung in der Albuminfraktion erhalten blieb. Das folgende Beispiel gibt einen Versuch wieder, der, ähnlich wie derjenige in Tabelle IV, ein Gemisch von einem heterogenetischen und einem allgemeinen Lipoid-Antiserum betraf.

1 ccm eines Gemisches von Pferdenierenextrakt- und Rinderherzextrakt-Antiserum wurde eine Stunde mit 8,2 ccm 1/200 n/Salzsäure bei 0° digeriert. Nach dem Zentrifugieren wurde der Abguß (Albumin) durch Zusatz von 0,8 ccm 10proz. Kochsalzlösung besalzen, das Sediment (Globulin) in 10 ccm 0,9proz. Kochsalzlösung aufgenommen.

Absteigende Mengen (Volumen 0,25 ccm) des
a) Abgusses,
b) Globulins,
c) 10fach verdünnten nativen Gemisches
wurden mit je 0,25 ccm 6fach verdünnten
I. cholesterinierten Pferdenierenextrakts,
II. „ Rinderherzextrakts
über Nacht im Brutschrank gehalten.

Sodann wurde die Flockung mit dem aus Tabelle VI ersichtlichen Ergebnis abgelesen.

Tabelle VI.

Mengen des 10fach verdünnten Antiserum-gemisches bzw. seiner Fraktionen ccm	Ausflockung von chol. Extrakt aus					
	I Pferdeniere und Antiserum-gemisch			II Rinderherz und Antiserum-gemisch		
	a Albumin	b Globulin	c nativ	a Albumin	b Globulin	c nativ
0,5	+++	+++	+++	++	+++	+++
0,25	+++	+++	+++	++	+++	+++
0,15	+++	+++	+++	++	+++	+++
0,1	+++	+++	+++	+	+++	+++
0,05	+++	++	+++	±	++	++
0,025	+++	+	+++	—	+	++
0,015	++	—	++	—	—	+
0,01	+	—	++	—	—	±
0	—	—	—	—	—	—

Wie die Tabelle zeigt, ist die heterogenetische Antikörperquote wesentlich in der Albuminfraktion enthalten. Daß auch die Globulinfraktion flockend wirkt, erklärt sich hinreichend durch den Uebergang der allgemeinen Lipoidantikörper in das Sediment. Dementsprechend weist die flockende Wirkung der Globulinfraktion gegenüber cholesteriniertem Rinderherzextrakt etwa den gleichen Grad wie gegen cholesterinierten Meerschweinchennierenextrakt auf, während die Albuminfraktion wesentlich stärker an Flockungskraft gegenüber cholesteriniertem Rinderherzextrakt abgenommen hat. Wenn also auch die ubiquitäre Antikörperquote nicht isoliert in der Globulinfraktion erscheint, so ergibt sich doch bei einem Vergleich der Teile I und II der Tabelle eine deutliche Inversion im gegenseitigen Verhalten der Albumin-Globulinfraktion. Das Ergebnis entspricht also grundsätzlich dem bei Ausführung der Komplementbindung erhaltenen.

Was nun die Frage anlangt, wodurch der Uebergang der allgemeinen Lipoidantikörper bei der Salzsäurefällung in die Globulinfraktion bedingt ist, so haben meine Versuche eine befriedigende Aufklärung bisher nicht zu erbringen vermocht. Beim Erhitzen von Antiseris oder auch von normalen Kaninchenseris auf 100° in geeigneter Verdünnung konnten Lipoidantigenfunktionen nicht nachgewiesen werden. Eine Disponibilität etwa larvierter Lipoidantigene nach thermischen Eingriffen ließ sich also nicht ermitteln. Auch Versuche, die Sera mit Alkohol zu behandeln und dadurch ein Freiwerden larvierter Lipoidfunktionen zu erzielen, verliefen negativ trotz mannigfacher Variationen, die bei der Alkoholeinwirkung auf Sera vorgenommen wurden. Ein Freiwerden der Lipoidantigenfunktionen konnte erst beim Behandeln der Sera mit 60proz. Alkohol und steigender Alkoholkonzentration erreicht werden. Die ubiquitären Lipoidantigene waren dann in den alkoholischen Extrakten vorhanden und erreichten bei Verwendung von 80—90proz. Alkohol zur Extraktion ein Optimium ihrer Reaktionsfähigkeit.

So muß ich also die Frage, wieso bei der Salzsäurefällung nach dem Vorgange von Selter die allgemeinen Lipoidantikörper im wesentlichen in die Globulinfraktion gehen, und ob es sich hierbei in der Tat um eine Reaktionsfähigkeit disponibel gewordener Lipoidantigene handelt, dahingestellt lassen. Bei einer weiteren Analyse wird vielleicht der Umstand besondere Beachtung finden müssen,

daß, wie meine Versuche gezeigt haben, nicht alle Lipoidantisera sich bei der Salzsäurefällung in der gleichen Weise verhalten, wenn auch grundsätzlich die Beobachtungen von Selter bei der Prüfung einer Reihe von Antiseris Bestätigung gefunden haben. Das regelmäßige Verhalten der heterogenetischen Antisera läßt allerdings besondere Mechanismen bei der Salzsäurefällung je nach der Art der Haptenfunktion vermuten. Fortgesetzte Versuche werden dahin streben müssen, in die vorliegenden Bedingungen einen näheren Einblick zu erhalten.

Zusammenfassung.

1) Bei der Prüfung einer Reihe gegen ubiquitäre Lipoide gerichteter Antisera ergaben sich nach Salzsäurefällung wechselnde Ergebnisse. Zum Teil war die Albuminfraktion wirksamer als der Globulinanteil, während in der Mehrzahl der Fälle sich das von Selter angegebene Verhalten bestätigen ließ, nach dem diese Antikörper bei der Säurefällung in der Kälte zum größten Teil oder auch ausschließlich im Globulin enthalten sind. Eine Ursache für das unterschiedliche Verhalten ließ sich nicht erkennen.

2) Heterogenetische Antikörper waren, in Uebereinstimmung mit den Angaben Selters, stets annähernd quantitativ in der Albuminfraktion enthalten.

3) Bei Verwendung geeigneter heterogenetischer Antisera, die auch auf ubiquitäre Lipoide übergriffen, gelang es durch Salzsäurefällung die heterogenetischen Antikörper von den allgemeinen Lipoidantikörpern zu trennen.

4) Auch in Gemischen von heterogenetischen und allgemeinen Lipoidantiseris konnte grundsätzlich die Möglichkeit einer derartigen Trennung festgestellt werden.

5) Eine Verstärkung der Wirkung von Lipoidantiseris oder Wassermann-positiven Seris durch Salzsäurebehandlung nach dem Vorgange von Auguste war nur in Ausnahmefällen nachzuweisen. Die Möglichkeit einer derartigen Verstärkung unter geeigneten Versuchsbedingungen soll aber nicht ausgeschlossen werden.

6) Flockungsversuche führten grundsätzlich etwa zu den gleichen Ergebnissen wie die Komplementbindung.

7) Beweise für eine in den Salzsäuresedimenten manifest werdende Antigenfunktion als Ursache für ihre Reaktionsfähigkeit mit Lipoidantikörpern ließen sich nicht erbringen.

Herrn Professor Sachs, der mich in schwerer Zeit mit der vorliegenden Untersuchung beauftragte, spreche ich für die Anregung, den fortlaufenden gütigen Rat und die Ueberlassung des Materials meinen herzlichen Dank aus.

Ich danke dem Herrn Verleger Dr. Gustav Fischer für die Erfüllung meiner Wünsche, Herrn Professor Dr. Robert Doerr und Herrn Dekan Professor Dr. John E. Staehelin dafür, daß sie die Arbeit der Medizinischen Fakultät Basel als Doktordissertation vorlegten.